

Biomédica 2009;29:604-15

ARTÍCULO ORIGINAL

Resistencia metabólica a insecticidas organofosforados en *Anopheles aquasalis* Curry 1932, municipio Libertador, estado Sucre, Venezuela

Darjaniva Molina, Luisa Elena Figueroa

Instituto de Altos Estudios en Salud Pública "Dr. Arnoldo Gabaldón", Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental, Ministerio del Poder Popular para la Salud, Maracay, Aragua, República Bolivariana de Venezuela

Introducción. Se realizó un estudio centrado en las localidades de Catuaro, Guayana, Platanito y Río de Agua, del municipio Libertador, estado Sucre, Venezuela, región con transmisión de malaria, donde el vector principal es *Anopheles aquasalis*.

Objetivo. Evaluar la expresión de resistencia a los insecticidas organofosforados fenitrotión y metilpirimifos, usados para el control de *An. aquasalis*.

Materiales y métodos. En mosquitos adultos de las localidades mencionadas, se realizaron pruebas biológicas y se identificaron los mecanismos de resistencia *in vitro* por medio de pruebas bioquímicas.

Resultados. Se detectó elevación de las esterasas alfa y beta, y alteración de la acetilcolinesterasa. Las enzimas oxidasas de función múltiple en las poblaciones de *An. aquasalis* de tres de las localidades evaluadas, también resultaron alteradas, por lo que ambos sistemas enzimáticos pudieran estar interviniendo en la expresión de resistencia a insecticidas organofosforados en las poblaciones de estudio. Por otro lado, la actividad enzimática de la glutatión-S-transferasa sólo está operando en Río de Agua.

Conclusión. Los datos obtenidos aportan información para un mejor conocimiento de la resistencia a insecticidas en esta especie de importancia médica, con el fin de implementar la rotación de insecticidas como estrategia dentro de un programa de manejo integrado.

Palabras clave: *Anopheles*, insecticidas organofosforados, acetilcolinesterasa, esterasas, oxidoreductasa, resistencia a los insecticidas.

Metabolic resistance to organophosphate insecticides in *Anopheles aquasalis* Curry 1932, Libertador municipality, Sucre State, Venezuela

Introduction. A study of insecticide resistance was undertaken at focal level in the localities Catuaro, Guayana, Platanito and Río de Agua, Libertador County, Sucre State, Venezuela, a region with malaria transmission, where *Anopheles aquasalis* is the main vector.

Objective. Insecticide resistance was assessed in the organophosphate insecticides fenitrothion and pirimiphos methyl, both of which are used in the control of *Anopheles aquasalis*.

Materials and methods. In adult mosquitoes, biological tests were performed and identification of resistance mechanisms *in vitro* by biochemical tests.

Results. Elevated levels of alpha and beta esterases were detected, as well as altered acetylcholinesterase activity. Multifunction oxidase enzymes in populations of *Anopheles aquasalis* in three of the locations evaluated were also altered; therefore, both enzyme systems may be involved in the expression of resistance to organophosphate insecticides in the study populations. The enzyme activity of glutathione-S-transferase was noted only in Río de Agua.

Conclusions. A better understanding of the resistance to insecticides was obtained in this species of medical importance. These findings will assist the implementation the practice of insecticide rotation as a strategy within an integrated management program.

Key words: *Anopheles*; insecticides, organophosphate; acetylcholinesterase, esterases, oxidoreductases, insecticide resistance.

El paludismo, o malaria, es una enfermedad parasitaria que se transmite de un humano a otro por la picadura de mosquitos del género *Anopheles* Ross 1897 infectados con parásitos protozoarios del género *Plasmodium* Laverán 1880. Esta enfermedad constituye un problema de salud en gran parte de los países tropicales y subtropicales. Los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de los Estados Unidos calculan que cada año se presentan de 300 a 500 millones de casos de malaria y que más de un millón son mortales. En algunas regiones del mundo, el mosquito que transmite la malaria ha desarrollado resistencia ante sustancias insecticidas, mientras que el parásito ha desarrollado resistencia a los antipalúdicos. Esto ha dificultado el control tanto de la tasa de infección como de la diseminación de la enfermedad (1).

Los insecticidas han jugado un papel importante en el control de insectos vectores de enfermedades desde principios del siglo XX. La Organización Mundial de la Salud (OMS) está promoviendo el control integrado de vectores, incluyendo medidas alternativas como el control biológico o el manejo ambiental, en el tiempo y lugar donde ellas sean efectivas y aplicables; también promueve el uso de insecticidas cuando el control biológico no es una alternativa. En tal sentido, los insecticidas continúan siendo un elemento vital en programas de control. Sin embargo, existe una importante habilidad de las poblaciones de insectos para desarrollar resistencia a varias clases de insecticidas que se han usados (2).

La resistencia ha sido un problema en muchos grupos de insectos vectores de enfermedades emergentes. Aunque los mecanismos por los cuales los insecticidas llegan a ser menos

efectivos son similares en todas las especies de vectores, cada problema de resistencia es potencialmente único y puede involucrar patrones complejos de resistencia focal (3).

El dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) fue el primer insecticida empleado en el control de los mosquitos y en 1947 se reportó el primer caso de resistencia al DDT en el género *Aedes*. Después de esto se ha encontrado resistencia en más de 100 especies de mosquitos a uno o más insecticidas y más de 50 pertenecen al género *Anopheles*. Los insecticidas empleados para el control de la malaria incluyen los grupos de los organofosforados, carbamatos y piretroides (4).

Se conocen varios mecanismos de resistencia bioquímica, los cuales incluyen: aumento del metabolismo de los plaguicidas a productos no tóxicos, incremento de la sensibilidad del sitio blanco, disminución en las tasas de penetración de los insecticidas y aumento de las tasas de excreción de los insecticidas (5). Se ha demostrado que muchos sistemas enzimáticos están involucrados en la desintoxicación de las cuatro principales clases de insecticidas y, usualmente, la resistencia se atribuye al incremento en las actividades enzimáticas del vector. La elevación de los niveles de glutatión-S-transferasa, monooxigenasas, carboxilesterasas y acetilcolinesterasa insensible, indica tolerancia y resistencia a las principales clases de insecticidas que han sido desarrollados y usados contra artrópodos de importancia agrícola y en salud pública (6).

Particularmente en Venezuela, el uso prolongado de insecticidas ha contribuido a la aparición de resistencia en poblaciones de *An. aquasalis*, vector principal de malaria en el estado Sucre, lo cual ha dificultado el control de esta enfermedad por medio de la eliminación del vector (7). Para 1997, *An. aquasalis* se reportó como sensible a insecticidas organofosforados, entre los que se incluye metil-pirimifos; no obstante, este insecticida fue el que presentó mayor valor de tiempo letal, en relación con los insecticidas malatión, fentión y fenitrotión, lo cual evidencia que ya se estaba desarrollando resistencia incipiente a metil-pirimifos.

Correspondencia:

Darjaniva Molina, Instituto de Altos Estudios en Salud Pública "Dr. Arnoldo Gabaldon", Avenida Bermúdez Sur No. 93, Maracay, estado Aragua, República Bolivariana de Venezuela.
Teléfono: (0058-0243) 241 2846; fax: (0058-0243) 233 6933
darja2410@gmail.com

Recibido:05/03/09; aceptado:16/06/09

Por otro lado, el programa de control de la malaria en el estado Sucre está basado en la aplicación espacial de insecticidas organofosforados contra mosquitos adultos y la administración masiva de medicamentos antipalúdicos; infortunadamente, en la actualidad existe resistencia tanto a fármacos como a insecticidas convencionales (8). En la historia particular del uso de insecticidas en salud pública para el control de malaria, los datos señalan que el uso intensivo de malatión fue de 94% y de 50% de fenitrotión durante los años 1998 y 1999 cuando la casuística era de 4.674 casos. El actellic (metil-pirimifos al 50%) fue incorporado desde el año 2000, con 5.011 casos de malaria en el estado Sucre, hasta el 2005, de manera ininterrumpida (9).

Materiales y métodos

Insectos

La muestra estuvo comprendida por la fauna de anofeles del municipio Libertador en el estado Sucre. Se evaluaron mosquitos adultos de *An. aquasalis* de las localidades de Catuaro (10° 34' 35.02" N, 63° 04' 53.97" O), Guayana (10° 35' 00.02" N, 62° 59' 00.12" O), Platanito (10° 36' 10.19" N, 63° 00' 50.00" O) y Río de Agua (10° 34' 37.93" N, 62° 59' 46.70" O), recolectados en el peridomicilio entre las 18:00 y las 20:00, en cuatro establos para ganado vacuno, uno en cada localidad; se hizo sobre cebo animal y reposando en vegetación, con una frecuencia de siete días por mes, de mayo a octubre, durante la estación lluviosa en los años 2006 y 2007. Cabe destacar que, en el estado Sucre, los picos de mayor densidad de *An. aquasalis* se presentan generalmente en los meses de lluvia (10,11).

Insecticidas

Se evaluaron dos insecticidas organofosforados, fenitrotión (95% P/P) y metil-pirimifos (89,8% P/P), en presentación grado técnico, sin valor comercial, que fueron suministrados por Insecticidas Internacionales Compañía Anónima, INICA.

Pruebas biológicas

Los bioensayos se realizaron siguiendo el método de las botellas de los CDC. Los

mosquitos adultos hembra recolectados se expusieron a botellas de vidrio tipo Wheaton de 250 ml, tratadas con soluciones cetónicas de insecticidas, las cuales se usaron como cámaras de prueba para detectar la resistencia a los insecticidas en mosquitos adultos.

En ensayos anteriores se definió la dosis diagnóstica como la menor dosis que mata el mayor porcentaje de los insectos expuestos y se usó el límite de ≥ 60 minutos para categorizar las poblaciones como resistentes o sensibles. Por ello, se evaluaron los insecticidas fenitrotión y metil-pirimifos, a la concentración de 5 $\mu\text{g/ml}$. Las botellas de control del experimento sólo fueron tratadas con acetona.

Los ensayos se realizaron a temperaturas aproximadas de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $75\% \pm 5\%$. Se expusieron, aproximadamente, 10 mosquitos adultos hembras por botella y se evaluaron cuatro repeticiones por cada concentración de insecticida y dos repeticiones como grupo control. Cada ensayo se hizo por triplicado y se empleó un promedio de 120 mosquitos por bioensayo en cada una de las localidades, para cada insecticida. Los ensayos fueron replicados tres veces en días distintos, durante el tiempo que se lograba el 100% de mortalidad. De esta manera se determinó el efecto del insecticida en función del tiempo de exposición (12,13).

Pruebas bioquímicas

Cada mosquito fue triturado en 50 μl de solución tampón de fosfato y diluido a 0,5 ml de la misma solución. Se tomaron alícuotas de 50 μl de cada muestra y se colocaron en placas para microtitulación de 96 pocillos. Se evaluaron seis diferentes enzimas que confieren resistencia a insecticidas; esterasas α y β , oxidasas de función múltiple (OFM), glutatión-S-transferasa (GST), acetilcolinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (AChEi). Los substratos utilizados en cada ensayo incluyeron: α y β -naftil-acetato para las esterasas no específicas; glutatión reducido y CDNB (1-chloro-2,4'-dinitrobenzeno) para la GST; TMBZ (3,3',5,5'-tetrametil benzidina) para las oxidasas (hemoperoxidasa); el yoduro de acetiltiocolina se usó para medir la actividad

de la acetilcolinesterasa normal, y para la acetilcolinesterasa insensible se añadió el insecticida carbamato propoxur a la muestra.

La absorbancia se midió en un lector de ELISA, Multiskan Plus® de Fisher Scientific, empleando filtros de 405 nm para GST, AChE y AChEI; para las esterasas y oxidasas se empleó filtro de 620 nm (14-17).

Los resultados obtenidos para las pruebas, se analizaron en función de los valores de absorbancia, según el siguiente criterio: para las esterasas α y β ($>0,8$), oxidasas de función múltiple ($>0,5$) y las glutatión-S-transferasa ($>0,2$). La actividad de la acetilcolinesterasa fue clasificada como “no alterada”, “incipientemente alterada” o “alterada”, cuando el porcentaje de inhibición era menor de 15%, entre 15% y 50% o mayor de 50%, respectivamente (18,19).

A los datos obtenidos se les aplicó análisis de varianza de una sola vía no paramétrico de Kruskal Wallis y prueba de medias de Bonferroni a un nivel de significación del 0,05%. El análisis aplicado es del tipo en que se establece comparación en el conjunto de las cuatro localidades experimentales, para cada mecanismo, por lo que se estableció un único valor de P y F para cada comparación.

Resultados

En la figura 1 se presenta la relación tiempo (dosis) mortalidad de *An. aquasalis* al fenitrotión, y se registra que los mosquitos de las cuatro localidades: Catuaro, Río de Agua, Platanito y Guayana, resultaron resistentes y se observó 100% de mortalidad en 60, 70, 120 y 150 minutos, respectivamente. Así, también, en la figura 2 se presenta la relación tiempo (dosis) mortalidad de *An. aquasalis* al metil-pirimifos; se encontró que los mosquitos de todas las localidades resultaron resistentes y se observó 100% de mortalidad en 90, 60, 70 y 80 minutos, respectivamente.

Los resultados de la medición de los niveles de esterasas alfa y beta de poblaciones de *An. aquasalis* de las localidades evaluadas, se muestran en las figuras 3a-3d. Los valores de absorbancia oscilaron entre 0,8 y 3,7, y mantienen una distribución normal.

En el cuadro 1 se muestra el ANOVA de una sola vía para esterasas alfa, el cual reveló similitud entre Catuaro y Guayana, y diferencias significativas ($p<0,0001$) de éstas con Platanito y Río de Agua ($F=226,42$). Para esterasas beta, se encontraron diferencias significativas ($p<0,0001$) entre las poblaciones de mosquitos

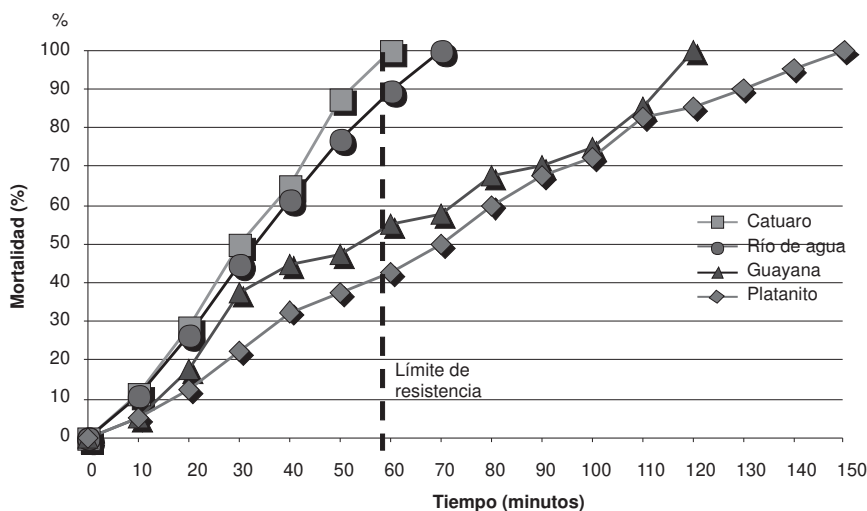


Figura 1. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos al organofosforado fenitrotión. Municipio Libertador, estado Sucre

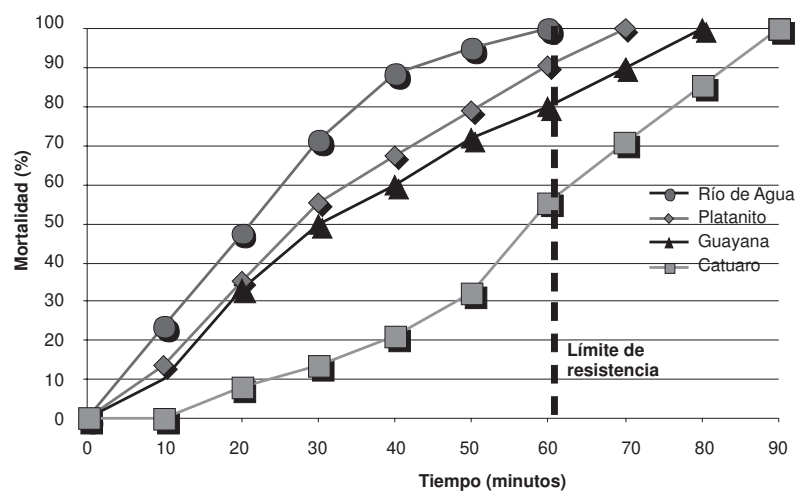


Figura 2. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos al organofosforado pirimifosmetil, municipio Libertador, estado Sucre

Cuadro 1. Estadística descriptiva y análisis de varianza por una sola vía, de la actividad enzimática en adultos de *Anopheles aquasalis* medidos en absorbancia, municipio Libertador, estado Sucre, Venezuela.

Mecanismo	Localidad	N	Media	Desviación estándar	F* (ANOVA)	P*
ATCH no inhibida	Catuaro	84	0,6473	0,0247	82,36	<0,0001
	Guayana	90	0,3154	0,0113		
	Platanito	90	0,7584	0,0409		
	Río de Agua	90	0,3045	0,0142		
ATCH inhibida	Catuaro	84	0,18642	0,00418	59,72	<0,0001
	Guayana	90	0,31553	0,00596		
	Platanito	90	0,21164	0,00908		
	Río de Agua	90	0,27270	0,00933		
EST alfa	Catuaro	84	2,7074	0,1922	226,42	<0,0001
	Guayana	90	3,0957	0,0200		
	Platanito	90	1,8696	0,0241		
	Río de Agua	90	2,3201	0,0584		
EST beta	Catuaro	84	2,1202	0,0157	28,44	<0,0001
	Guayana	90	2,1778	0,00803		
	Platanito	90	1,9319	0,0200		
	Río de Agua	90	1,8694	0,0480		
MFO	Catuaro	84	1,1842	0,0316	154,27	<0,0001
	Guayana	90	1,3470	0,0299		
	Platanito	90	0,8123	0,0552		
	Río de Agua	90	0,3269	0,0197		
GST	Catuaro	84	0,21090	0,00408	72,14	<0,0001
	Guayana	90	0,17440	0,00538		
	Platanito	90	0,17546	0,00417		
	Río de Agua	90	0,24736	0,00215		

N=individuos evaluados

* Por cada mecanismo y para todas las localidades

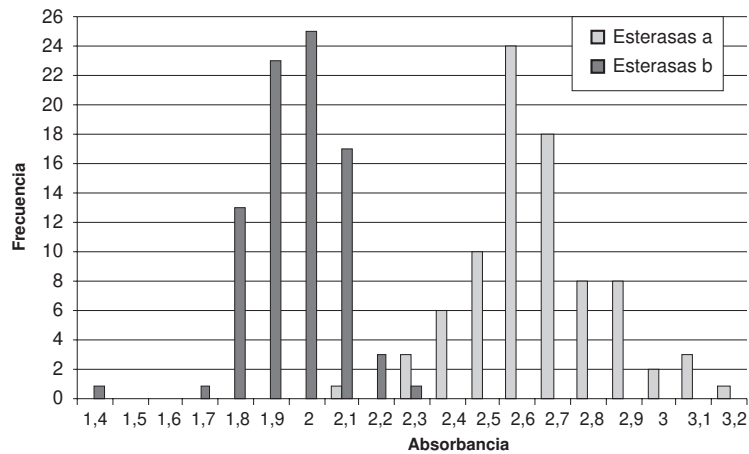


Figura 3a. Niveles de esterases en adultos de *Anopheles aquasalis* de Catuaro, municipio Libertador, estado Sucre.

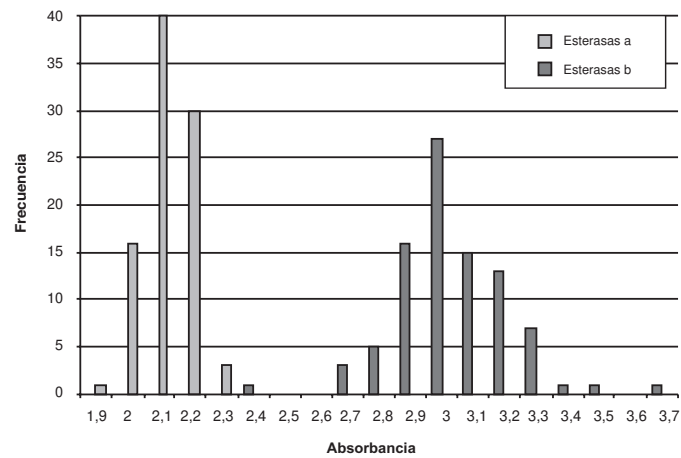


Figura 3b. Niveles de esterases en adultos *Anopheles aquasalis* de Guayana, municipio Libertador, estado Sucre.

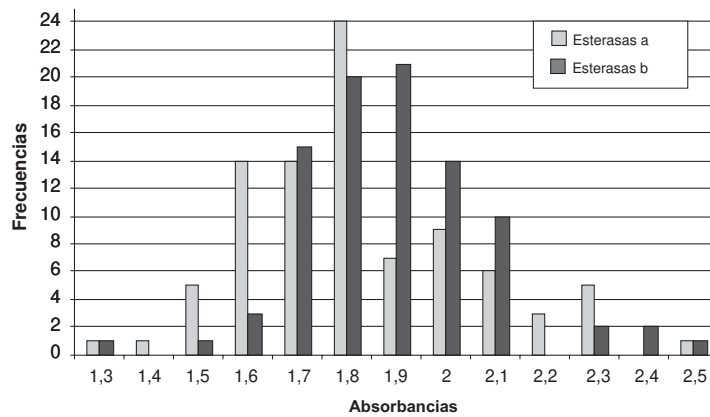


Figura 3c. Niveles de esterases de adultos *Anopheles aquasalis* de Platanito, municipio Libertador, estado Sucre.

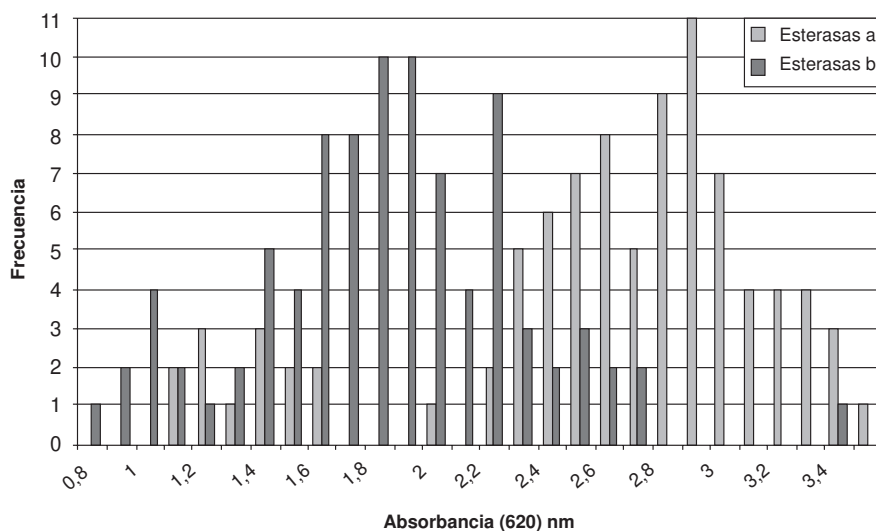


Figura 3d. Niveles de esterazas en *Anopheles aquasalis* de Río de Agua, municipio Libertador, estado Sucre (N=90)

($F=28,44$). Además, se aplicó la prueba de medias de Bonferroni y se encontró similitud entre las poblaciones de Río de Agua y Platanito, y diferencias significativas entre éstas y los mosquitos de Guayana y Catuaro.

En la figura 4 se muestran las frecuencias de los valores de oxidazas, los cuales oscilaron entre 0,1 y 2,3. Se encontró similitud entre Catuaro y Guayana, y diferencias significativas ($p<0,0001$) entre éstas y las de Platanito y Río de Agua ($F=154,27$).

Por otro lado, la actividad enzimática de la glutatión-S-transferasa de todas las poblaciones de mosquitos se muestra en la figura 5, con valores de absorbancia que oscilaron entre 0,15 y 0,23; sin embargo, sólo Río de Agua resultó positivo para este mecanismo.

En el cuadro 1 se presenta el ANOVA de una sola vía, el cual reveló diferencias significativas ($p<0,0001$) entre las poblaciones de mosquitos ($F=72,14$). Se aplicó la prueba de medias de Bonferroni y se encontró similitud entre las poblaciones de Guayana y Platanito; además, se encontraron diferencias significativas entre éstas y las de los mosquitos de Catuaro y Río de Agua.

En la figura 6 se muestra la frecuencia de los porcentajes de inhibición de la acetilcolinesterasa, encontrándose distintos niveles entre las poblaciones de mosquitos evaluadas. De Catuaro, 82,14% de los individuos presentaron AChe (IA); 14,28% AChe (A) y 3,57% AChe normal. Por otra parte, en Guayana, 74,4% de los individuos presentaron AChe (IA) y 25,6% AChe (A). Así, también, 58,9% de los mosquitos de Río de Agua presentaron AChe (IA) y 41,1% mostraron AChe (A); en ambas cepas no se encontraron individuos con AChe normal, a diferencia de los mosquitos de Platanito, de los cuales 23,3% presentaron AChe normal, 55,6% AChe (IA) y 21,1% AChe (A). El ANOVA de una sola vía reveló diferencias significativas ($p<0,0001$) entre las poblaciones de mosquitos para AChe inhibida ($F=59,72$) y para AChe no inhibida ($F=82,36$).

La prueba de medias de Bonferroni encontró similitud entre las poblaciones de Guayana y Río de Agua, y diferencias significativas entre éstas y los mosquitos de Catuaro y Platanito.

Discusión

El uso de insecticidas sigue siendo la estrategia de control más efectiva en la

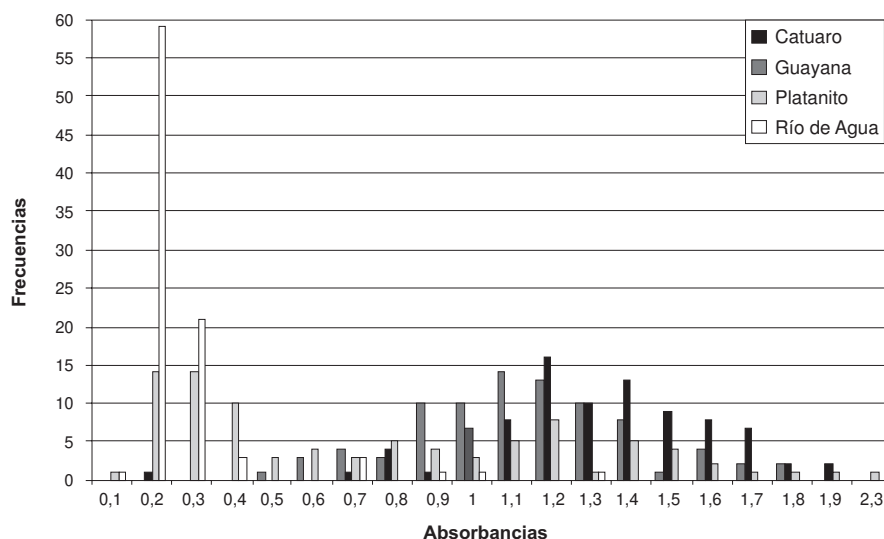


Figura 4. Frecuencia de la distribución de niveles de oxidasas obtenidos a partir del ensayo de la hemoperoxidasa en mosquitos adultos de *Anopheles aquasalis*, municipio Libertador, estado Sucre.

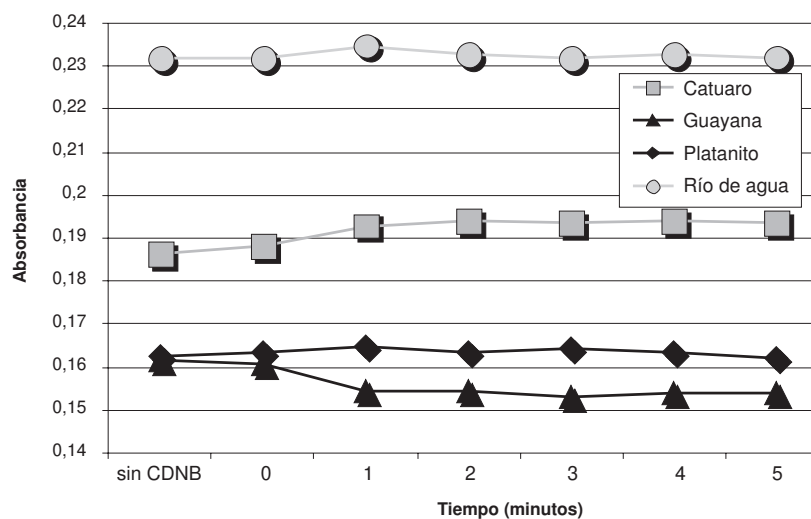


Figura 5. Actividad enzimática glutatión-S-transferasa en adultos de *Anopheles aquasalis*, municipio Libertador, estado Sucre.

lucha contra la malaria. Lamentablemente, el creciente desarrollo de resistencia a insecticidas amenaza esta alternativa, comprometiendo a los programas de control vectorial a implementar la vigilancia periódica de la resistencia en especies de vectores.

La combinación de datos biológicos y bioquímicos utilizada en este trabajo permitió detectar niveles de resistencia de *An. aquasalis*

de cuatro localidades del municipio Libertador, estado Sucre, con transmisión activa de malaria, mediante diferentes mecanismos enzimáticos, a fenitrotión y a metil-pirimifos.

No obstante, los niveles de resistencia encontrados para el fenitrotión en el presente trabajo fueron mayores en una o dos veces al encontrado con metil-pirimifos, en las localidades Río de Agua, Platanito y Guayana.

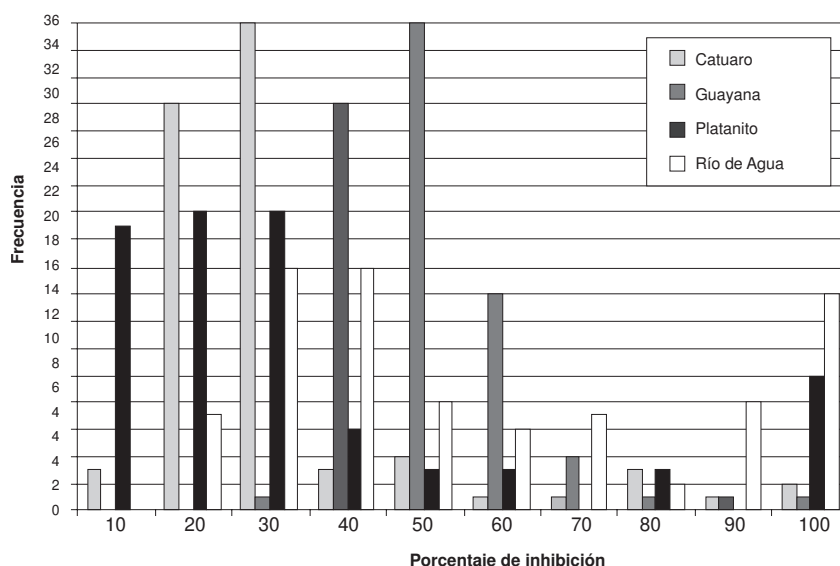


Figura 6. Porcentaje de la actividad acetilcolinesterasa inhibida con el insecticida carbamato Propoxur en adultos de *Anopheles aquasalis*, municipio Libertador, estado Sucre.

Esto indica que, por el uso intensivo del fenitrotión, éste ejerció presión selectiva sobre las poblaciones de mosquitos que se intentaba controlar, desarrollando en el tiempo poblaciones resistentes, a excepción de los mosquitos de Catuaro en los que el nivel de resistencia fue 1,5 veces mayor a metil-pirimifos.

Los resultados constituyen una alerta para implementar estrategias dirigidas al manejo y vigilancia de la resistencia de dichas poblaciones, dado a que el fenitrotión y el metil-pirimifos son los insecticidas organofosforados más usados por las autoridades de salud para el control de la malaria en las localidades estudiadas.

Mediante pruebas bioquímicas se demostró que las enzimas esterasas y oxidasas están actuando como mecanismos específicos de resistencia en las poblaciones de *An. aquasalis* de las localidades evaluadas, lo que compromete a los insecticidas fenitrotión y metil-pirimifos, por medio de las esterasas. Los altos valores de absorbancia para las esterasas alfa y beta caracterizan a *An. aquasalis* de Catuaro, Guayana, Río de Agua y Platanito como resistentes para los insecticidas mencionados.

Estos resultados concuerdan con Rodríguez *et al.* (19), quienes reportaron la actividad de

esterasas inespecíficas y GST, para *Culex quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* de Venezuela y Cuba. Asimismo, Flores *et al.* (20) reportaron que en hembras adultas de cepas de *Ae. aegypti* mexicanas, de las localidades de Benito Juárez y Cozumel, se presentaron niveles elevados de esterasas alfa y beta, característicos del mecanismo de resistencia de esterasas; y ocurrieron de manera focal, con alta frecuencia en áreas turísticas donde el uso de insecticidas es intensivo. Figueroa Acosta *et al.* (13) identificaron en *An. aquasalis* de Puerta Negra, Aragua, Venezuela, el mecanismo de esterasas inespecíficas empleando el sinergista de DEF con el organofosforado metil-pirimifos; además, confirmaron elevación de las esterasas por métodos bioquímicos. Molina de Fernández *et al.* (21) reportaron resistencia múltiple a insecticidas en *An. marajoara* de Calabozo, Guárico, Venezuela, indicando aumento en el nivel de enzimas esterasas no específicas. Brogdon *et al.* (14) también identificaron el mecanismo de esterasas elevadas en *Culex* sp., el cual confiere resistencia a una amplia variedad de organofosforados.

También se han desarrollado ensayos bioquímicos para medir niveles de enzimas oxidasas en mosquitos, relacionadas con la

resistencia a insecticidas, y se conocen valores elevados de tales enzimas en la expresión de tolerancia a insecticidas organofosforados y piretroides. Dicho mecanismo fue señalado por Brogdon *et al.* (14), quienes lo encontraron sólo en hembras de *An. albimanus*. Asimismo, Chareonviriyaphap *et al.* (22), usando el ensayo bioquímico, investigaron mecanismos de resistencia metabólica a insecticidas en colonias resistentes y una cepa sensible de la especie *An. minimus*, y midieron los niveles de esterasas no específicas monoxigenasa y GST. Los resultados indicaron aumento de la actividad de la monoxigenasa en las poblaciones seleccionadas.

No obstante, Surendran *et al.* (23) reportaron, en poblaciones de *Phlebotomus argentipus* de Egipto, que solamente en unos pocos individuos se detectó aumento de la actividad de GST y alteración de la AChE. Esto puede representar resistencia seleccionada por el rociamiento con malatión.

Por el contrario, en este estudio la actividad enzimática de la glutatión-S-transferasa no está influenciando la resistencia en *An. aquasalis* de tres de las localidades estudiadas, a los insecticidas fenitrotión y pirimifos metil. Sin embargo, el mecanismo se presentó en mosquitos de Río de Agua, lo cual pudiera deberse a que esta actividad enzimática sea un efecto fisiológico no relacionado con el estatus de resistencia o, que dado a que la GST se encuentra asociada principalmente con resistencia a DDT, y la zona de estudio ha sido sometida a fuerte presión con insecticidas organoclorados, específicamente el DDT, ejercida por los organismos de salud para el control de la malaria (7), en concordancia con lo reportado por Penilla *et al.* (24), quienes demostraron que la resistencia a DDT en *An. albimanus* en México fue causada por niveles elevados de GST, catalizando la dehidroclorinación del DDT a su metabolito menos tóxico DDE.

Las altas frecuencias de AChE (IA) y AChE (A) detectadas en las poblaciones de *An. aquasalis* de Río de Agua y Guayana, indican que el fenómeno de la resistencia está presente y se

está expresando con gran formas heterocigotas y también con formas homocigotas para la resistencia a fenitrotión y metil-pirimifos, mientras que los mosquitos de Catuaro y Platanito aún expresan un porcentaje de individuos con AChE normal.

Estos resultados concuerdan con los reportados con Dzul *et al.* (25), en los cuales las poblaciones de *An. albimanus* de la localidad de La Unión, México, resultaron resistentes a metil-pirimifos, con mecanismos basados en AChE. De igual manera, Zayed *et al.* (5) encontraron niveles significativamente altos de AChE en poblaciones de *Culex pipiens* de Assiut y Qalubiya, Egipto. Por otra parte, Montella *et al.* (19) encontraron una AChE no alterada en cepas de *Ae. aegypti* de Brasil. Molina de Fernández *et al.* (21) encontraron resistencia múltiple a insecticidas en *An. marajoara* de Calabozo, Guárico, Venezuela, evidenciando acetilcolinesterasa insensible. La resistencia a organofosforados fue fuertemente reducida por el sinergista butóxido de piperonilo, demostrando la participación de oxidasas de función múltiple.

La información obtenida en el presente trabajo caracteriza la resistencia en poblaciones de *An. aquasalis* de zonas maláricas del estado Sucre, confirma la resistencia a organofosforados detectada, por lo que se piensa que dicha resistencia se debe a la presión ejercida por los servicios de salud con insecticidas durante largos periodos, el mismo tuvo un efecto selectivo produciendo un aumento en oxidasas de función múltiple, el cual puede afectar también la sensibilidad a insecticidas piretroides.

Estos resultados proveen información para la actualización de la línea de sensibilidad a insecticidas organofosforados de uso rutinario en programas de control de malaria local, así como también para la identificación de los mecanismos de resistencia que permitió determinar el espectro de resistencia, lo cual facilita la escogencia de insecticidas alternativos y permite el mapeo detallado de áreas con poblaciones resistentes.

Mientras no haya alternativas efectivas al uso del control químico, éste debe enmarcarse en

programas de control integrado, adaptándose a las condiciones locales, con énfasis en la rotación de insecticidas, a fin de prevenir, retardar o revertir el desarrollo futuro de resistencia en las poblaciones de insectos vectores (26). La evaluación periódica de la sensibilidad de los vectores a los insecticidas, así como la investigación sobre los factores que promueven o retardan la selección de formas de resistencia, son fundamentales en la elaboración de políticas de manejo y control, en la identificación del momento oportuno y la forma correcta de realizar cambios, y la forma correcta de realizar en los tipos de insecticidas para mantener sensibles las poblaciones de vectores (27).

Por lo tanto, es esencial disponer de métodos adecuados para detectar la resistencia antes que ésta se convierta en un problema operativo. La vigilancia de los cambios en la frecuencia de los mecanismos de resistencia a insecticidas es un factor esencial para usarlos correctamente, pues es el medio más efectivo para evitar o retardar la aparición de la resistencia a insecticidas.

El estudio realizado es de gran valor para la salud pública en Venezuela y otras regiones, como la Costa Atlántica de Colombia, donde también se encuentra este vector de la malaria. Por lo tanto, la difusión de estos resultados de resistencia a insecticidas en el vector *An. aquasalis* es fundamental para el abordaje de la malaria en el continente americano.

Agradecimientos

Al personal del Centro de Investigaciones de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental y Personal del Laboratorio Entomológico de Malaria del IAESP-Ministerio del Poder Popular para la Salud.

Conflicto de interés

Los autores manifestamos que no existe conflicto de interés en el contenido de esta publicación.

Financiación

La investigación fue financiada a través del proyecto FONACIT AS-2000001898 (Ministerio de Ciencia y Tecnología), coordinado por

Darjaniva Molina, además recibió apoyo logístico del Instituto de Altos Estudios en Salud Pública "Dr. Arnoldo Gabaldon" (IAESP-Ministerio del Poder Popular para la Salud).

Referencias

1. **Centers for Disease Control and prevention.** Paludismo (malaria). 2007. Fecha de consulta: 5 de octubre de 2008. Disponible en: <http://www2a.cdc.gov/podcasts/player.asp?f=7849>
2. **Insecticide Resistance Action Committee.** Prevention and management in vectors and pests of public health importance. 2006. Fecha de consulta: 6 de octubre 6 de 2008. Disponible en: <http://www.irac-online.org/documents/vectormanual.pdf>
3. **Brogdon W, McAllister J.** Insecticide resistance and vector control. Synopses. 1998;4:605-13.
4. **Hemingway J, Ranson H.** Insecticide resistance in insects vectors of human disease. Annu Rev Entomol. 2000;45:371-91.
5. **Zayed A, Szumilas D, Hanafi H, Fryauff D, Mostafa A, Allam K, et al.** Use of bioassay and microplate assay to detect and measure insecticide resistance in field populations of *Culex pipiens* from filariasis endemic areas of Egypt. J Am Mosq Control Assoc. 2006;22:473-82.
6. **Braga I, Valle D.** *Aedes aegypti*: insecticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiol Serv Saúde. 2007;16:279-93.
7. **Molina de Fernández D, Saume F, Bisset J, Hidalgo O, Anaya W, González J, et al.** Establecimiento de la línea de susceptibilidad de la fase adulta de *Anopheles Spp.* a insecticidas químicos. Bol Malariol Salud Ambient. 1997;37: 55-69.
8. **Berti J, Ramírez X, González J, Herrera M.** Evaluación de la efectividad de *Bacillus sphaericus* contra larvas de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) en criaderos naturales del estado Sucre, Venezuela. Entomotropica. 2002;17:1-5.
9. **Ministerio del Poder Popular para la Salud.** Informe técnico para el año 2008 de la Dirección de Endemias Rurales, Carúpano, estado Sucre, Venezuela. Carúpano: Ministerio del Poder Popular para la Salud; 2008.
10. **Berti J, Zimmerman R, Amarista J.** Adult abundance, biting behavior and parity of *Anopheles*

- aquasalis* Curry 1932 in two malarious areas of Sucre State, Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1993;88:363-9.
11. **Berti J, Gutiérrez A, Zimmerman R.** Relaciones entre tipos de hábitat, algunas variables químicas y la presencia de larvas de *Anopheles aquasalis* Curry y *Anopheles pseudopunctipennis* Theobald en un área costera del estado Sucre, Venezuela. Entomotopica. 2004;19:79-84.
 12. **Brogdon W, McAllister J.** Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. J Am Mosq Control Assoc. 1998;14:159-64.
 13. **Figuerola LE, Marín M, Pérez E, Molina de Fernández D.** Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua. Bol Malariol Salud Ambient. 2006;46:39-47.
 14. **Brogdon W, Beach R, Stewart J, Castanaza L.** Microplate assay analysis of the distribution of organophosphate and carbamate resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus*. Bull World Health Organ. 1988;66:339-46.
 15. **Brogdon W, Barber M.** Microplate assay of Glutathione-S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. Comp Biochem Physiol. 1990;96:339-42.
 16. **Brogdon W, McAllister J, Valule J.** Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. J Am Mosq Control Assoc. 1997;13:233-7.
 17. **Hemingway J.** Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual). Geneva: World Health Organization; 1998.
 18. **Flores A, Salomón J, Fernández I, Ponce G, Loaiza M, Lozano S, et al.** Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Quintana Roo, Southern Mexico. J Am Mosq Control Assoc. 2006;22:672-7.
 19. **Montella I, Martins A, Viana-Medeiros P, Pereira J, Braga I, Valle D.** Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. Am J Trop Med Hyg. 2007;77:467-77.
 20. **Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Díaz C, Soca A.** Adaptación de los métodos en placas de microtitulación para la cuantificación de la actividad de esterasas y glutatión-S-transferasa en *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop. 2001;53:32-6.
 21. **Molina de Fernández D, Figuerola LE, Pérez E.** Resistencia múltiple a insecticidas en *Anopheles marajoara* Galvao & Damasceno, 1942 en zonas agrícolas. Salud & Desarrollo Social. 2007;3:19-29.
 22. **Chareonviriyaphap T, Rongnoparut P, Chantaraporn P, Bangs M.** Biochemical detection of pyrethroid resistance mechanisms in *Anopheles minimus* in Thailand. J Vector Ecol. 2003;28:108-16.
 23. **Surendran S, Karunaratne S, Adams Z, Hemingway J, Hawkes N.** Molecular and biochemical characterization of a sand fly population from Sri Lanka: evidence for insecticide resistance due to altered esterases and insensitive acetylcholinesterase. Bull Entomol Res. 2005;95:371-80.
 24. **Penilla R, Rodríguez A, Hemingway J, Torres J, Arredondo-Jiménez J, Rodríguez M.** Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. Baseline data for a large-scale field trial against *Anopheles albimanus* in Mexico. Med Vet Entomol. 1998;12:217-33.
 25. **Dzul F, Penilla R, Rodríguez A.** Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Anopheles albimanus* del sur de la Península de Yucatán, México. Salud Pública Mex. 2007;49:302-11.
 26. **Fonseca I.** Estatus de la resistencia a insecticidas de los vectores primarios de malaria y dengue en Antioquia, Chocó, Norte de Santander y Putumayo, Colombia. (Tesis doctoral). Medellín: Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia; 2008.
 27. **Najera JA, Zaim M.** Malaria vector control: Decision making criteria and procedures for judicious use of insecticides. WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). Geneva: World Health Organization; 2002.